

MuSK 抗体陽性重症筋無力症における神経反復刺激試験の特徴

研究分担者 園生雅弘¹

共同研究者 北國圭一¹、岩波知子¹、畑中裕己¹

研究要旨

重症筋無力症 (MG) の診療において、MuSK 抗体陽性 MG は Ach 受容体抗体陽性 MG とは異なる臨床症候、経過を有し早期に鑑別がなされるべきである。一方で MuSK 抗体の結果判明には通常週単位以上の時間を要する。ここで、電気生理学的手法によって、MuSK 抗体陽性 MG かが速やかに推測できるのであればその意義は大きい。今回、我々は鼻筋 (Nas) の減衰率と、僧帽筋 (Trap)、三角筋 (Del) の減衰率の平均との差を求める、 $\text{MuSK index} = \text{Nas} - (\text{Trap} + \text{Del})/2$ を定義し、カットオフ値を 5% に設定することで感度 100%、特異度 81% という良好な結果を得た。これより、MuSK index 5% 以下では MuSK 抗体陽性 MG の可能性を考慮しないでよいという示唆が得られ、簡便に行える RNS により MuSK 抗体陽性 MG が速やかに除外できるということは非常に有益であると考えられた。

研究目的

MuSK 抗体陽性 MG はクリーゼをきたしやすく、テンシロンテストや抗 ChE 薬での増悪・クリーゼ誘発があるなど Ach 受容体抗体陽性 MG とは異なった臨床症候、臨床経過を呈する。従って、治療方針の決定のために、早期に両者の鑑別がなされることが望ましい。しかし、MuSK 抗体の結果判明には通常週単位以上の時間を要する。ここで、電気生理学的手法によって、MuSK 抗体陽性 MG かが速やかに推測できるのであればその意義は大きい。

MuSK 抗体陽性 MG における神経反復刺激試験 (RNS) では顔面筋での異常検出率が四肢筋に比べて高いとされている。しかし、顔面筋に障害が強いことは Ach 受容体抗体陽性 MG の特徴としても記載されており、RNS 所見から MuSK 抗体陽性 MG と Ach 受容体抗体陽性 MG との鑑別における、具体的な基準、指標は示されていない。

今回我々は MuSK 抗体陽性 MG と Ach 受容

1) 帝京大学神経内科
体抗体陽性 MG との鑑別に有用な RNS の特徴を明らかにすることを目的とした。

研究方法

対象は、2004 年から 2012 年の間に当院および関連施設にて診断された、治療前の MuSK 抗体陽性 MG 患者 6 名、AchR 抗体陽性 MG 患者 26 名。RNS の結果を後方視的に検討した。被検筋は、小指外転筋、総指伸筋、僧帽筋、三角筋、鼻筋の 5 筋で、複合筋活動電位 (CMAP) 振幅の 4 発目の減衰率をパラメータとして用い、両群で比較した。

(倫理面への配慮)

後ろ向き研究、及び、正常者の検査それぞれについて、帝京大学倫理委員会の承認を得た。正常者の検査にあたっては、検査内容・目的を十分に説明し同意を得た。

研究結果

MuSK 抗体陽性 MG 患者における減衰率は、小指外転筋、総指伸筋、僧帽筋、三角筋、鼻筋、それぞれについて 3.9 ± 8.3 、 1.0 ± 4.1 、 5.0 ± 6.9 、 4.9 ± 5.9 、 28.6 ± 15.2 であり、AchR 抗体陽性 MG 患者ではそれぞれ、 6.2 ± 12.3 、 14.7 ± 18.3 、 29.3 ± 20.6 、 22.3 ± 18.8 、 19.6 ± 22.1 であった。MuSK 抗体陽性患者では鼻筋の減衰率が際立って高かった (図 1)。

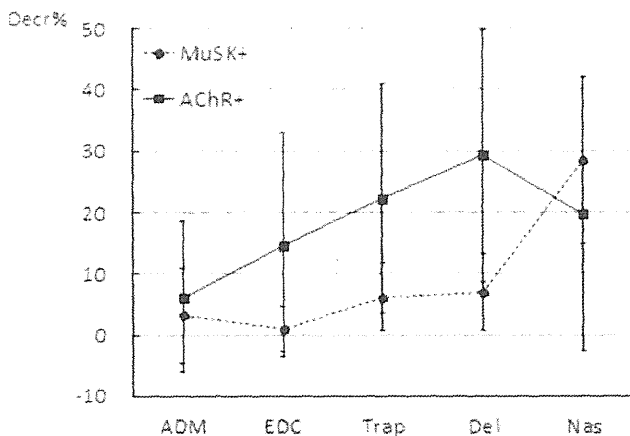


図1 MuSK抗体陽性患者とAChR抗体陽性患者のRNSのDecr%の比較

この結果から、鼻筋 (Nas) の減衰率と、僧帽筋 (Trap)、三角筋 (Del) の減衰率の平均との差を求める、 $\text{MuSK index} = \text{Nas} - (\text{Trap} + \text{Del})/2$ を定義した。MuSK index のカットオフ値を5%に設定することでMuSK抗体陽性MGの診断において感度100%、特異度 $(\text{Trap} + \text{Del})/2$ を定義した。MuSK index のカットオフ値を5%に設定することでMuSK抗体陽性MGの診断において感度100%、特異度81%という良好な結果が得られた (図2)。

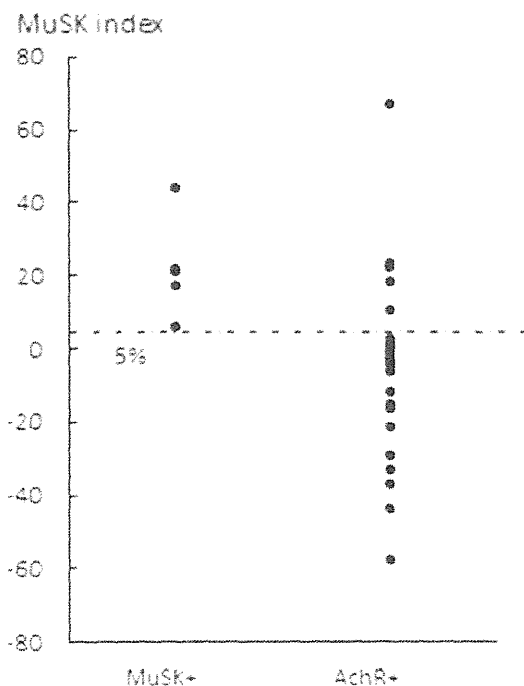


図2 MuSK Index の両群間での比較

考察

今回の結果から、MuSK index 5%以下ではMuSK抗体陽性MGの可能性は低いという示唆が得られた。簡便に行えるRNSによりMuSK抗体陽性MGが除外できれば、早期の治療法選択に有用と考えられた。本研究の限界としては、未だ症例数が少ない点が挙げられ、今後の症例蓄積が必要である。

結論

1. MuSK抗体陽性MG患者のRNSでは、ACh受容体抗体陽性MGと比較して、鼻筋の障害が僧帽筋・三角筋に比べ際立って強かった。
2. これに基づいたMuSK indexを提案した。カットオフ値5%以下ではMuSK抗体陽性MGは否定できると推測された。
3. 即日、容易に試行できるRNSによって、MuSK抗体陽性MGかどうかをスクリーニングできれば、抗体判明前の治療方針決定に有益であると考えられた。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・取得状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

重症筋無力症における経口ステロイド療法の限界 ：多施設共同横断的データ 472 例の解析

研究協力者 檜沢公明¹⁾

共同研究者 ○今井富裕²⁾, 鈴木重明³⁾, 津田笑子⁴⁾, 長根百合子¹⁾, 村井弘之⁵⁾,

増田眞之⁶⁾, 紺野晋吾⁷⁾, 鈴木靖士⁸⁾, 中根俊成⁹⁾, 下濱俊⁴⁾, 藤原一男¹⁰⁾, 鈴木則宏³⁾

要旨 : 我々は, 国内 11 施設に通院中の既診断重症筋無力症 (MG) 連続 676 例のうち経口プレドニゾロン (PSL) 治療が行なわれた 472 例を対象とし, 投与方法や併用療法と改善状況の関連について解析を行った. 現在, MGFA postintervention status¹⁾の MM or better に到達している良好群では, 75%以上の症例で PSL 用量が 5mg/日以下であった. その平均 (4.7mg/日) は I or worse 群 (7.3mg/日) に比べて有意に低かった. MM or better 到達群では最重症時の QMG が低く, 最高 PSL 用量が少なかった. また, 83.5%が最高 PSL 用量時には MM or better をすでに達成していた. PSL 投与期間には有意差がなかったが, PSL10mg/日以上投与期間は I or worse 群で有意に長く, 直近 1 年間の総 PSL 用量も I or worse 群で有意に多かった. MM or better 到達を予測する独立因子として抽出されたのは, 最高 PSL 用量時に MM or better に到達すること, 直近 1 年間の PSL の積算量がむしろ低いこと, 血液浄化療法あるいは IVIg を併用していることの 3 つであった. 経口ステロイド療法のみでは限界があり, 高い PSL 投与量, 長い 10mg/日以上投与期間が良好な改善状況に結びついていない例が少なくない. 併用療法を用い, 早い段階で MM or better を達成しておくことが重要である.

【目的】我々は, 本邦で行われている経口ステロイド療法の実態を把握するため, 国内 11 施設に通院中の既診断重症筋無力症 (MG) 連続 676 例を対象とした多施設共同研究を行い, 昨年の本会議において「MG での経口ステロイド療法とアウトカムとの関連」について報告した. その中で, prednisolone (PSL)の最高用量が抑えられると, 現在の quality of life (QOL) が高く, PSL 以外の治療の併用が奏功している可能性を指摘したが, 676 例の中には, 経過中一度も PSL を投与されていない症例が含まれていた. 今回は経口ステロイドによる治療の限界を知るため, PSL が投与された症例のみを対象として, 投与方法による有効性及副副作用発現の差異あるいは併用療法との関連について新たな解析を行った.

【対象・方法】国内 11 施設に通院中の既診断 MG 連続 676 例 (2012 年 4-7 月)のうち, 診療録から経口ステロイド使用経過と臨床経過について詳細に調査し得た 652 例を対象とした. MG の重症度は MGFA¹⁾分類, MGFA quantitative MG score (QMG)¹⁾を用いて定量的に評価した. 治療に伴う改善は MGFA postintervention status¹⁾で評価した. はじめに, PSL 内服による治療が行われたか否かによって, PSL 治療群 472 例と非治療群 180 例に群分けした (Table 1). 次に, PSL 治療群 472 例を現在 MM に達しているか否かで 2 群に分け, MM or better 群と I or worse 群の経口ステロイドの使用様式や PSL 以外の治療の差異を調べた. 2 群間の比較検定には, Mann-Whitney U 検定あるいは Pearson's χ^2 検定を用いた.

最後に, PSL 治療群において現在の MM or better を予測する独立因子を特定するため多変量ロジスティック回帰分析を行った. いずれの検定でも有意水準は 0.05 とした.

【結果】1. 現在の MM or better 群と I or worse 群の臨床的特徴 (Table 2)

MM or better 群では, 75%以上の症例で, PSL 内服量が 5mg/日以下におさえられていた. MM or better 群の平均投与量 (4.7mg/日) は I or worse 群 (7.3mg/日) に比べて有意に低かった. tacrolimus の投与量には両群で差がなかったが, CsA と pyridostigmine はいずれも I or worse 群の投与量の方が有意に多かった.

2. 過去の MG 重症度, PSL による治療, PSL 以外の治療と現在の重症度との関連 (Table 3)

現在 MM or better に達している群の方が, 有意に最重症時の QMG が低く, 最高用量が少なかった. さらに MM or better に達している例の 83.5%が PSL 最高用量時に MM or better を達成していた. 全 PSL 投与期間には両群間で有意差がなかったが, PSL10mg/日以上投与期間は I or worse 群で有意に長く, 直近 1 年間の総 PSL 投与量も I or worse 群で有意に多かった.

3. 多変量ロジスティック回帰分析 (Table 4)

現在の MM or better を予測する独立因子として抽出されたのは, PSL 最高用量時に MM or better に達すること, 直近 1 年間の PSL の積算量が低いこと, 血液浄化療法あるいは IVIg を併用していること, の 3 つであった.

1) 総合花巻病院神経内科, 2) 札幌医科大学保健医療学部,

3) 慶應義塾大学神経内科, 4) 札幌医科大学神経内科, 5) 九州大学神経内科,

6) 東京医科大神経内科, 7) 東邦大学医療センター大橋病院神経内科,

8) 仙台医療センター神経内科, 9) 長崎川棚医療センター, 10) 東北大学神経内科

(倫理面への配慮) 厚生労働省による「臨床研究に関する倫理指針」に基づき, 個人情報の保護は 2 重の匿名化によって徹底されている.

【結論】

中等度以上の投与量で長期間 PSL を投与する経口ステロイド療法には限界があり、PSL 投与量が増加しても現在の MG 症状の改善は得られていなかった。むしろ、血液浄化療法あるいは IVIg を併用することによって、PSL 最高用量時には確実に MM or better を達成することが現在の MG 症状を好転させる重要な要因である。

【参考文献】

1. Jaretzki A, et al. Myasthenia gravis: recommendations for clinical research standards. *Neurology* 2000; 55: 16-23.

健康危険情報
なし

知的財産権の出願・登録状況
特許取得：なし
実用新案登録：なし

Table 1. Clinical characteristics of MG patients treated vs. not treated with oral PSL

	Oral PSL treatment (n=472)	No PSL treatment (n=1)
Demographics		
Gender (% women)	66.3	67.2
Age (yrs)	57.0±16.5	58.5±16.2
Age of onset (yrs)	46.0±18.5	48.6±17.4
Disease duration (yrs)*	11.1±10.0	9.5±9.5
MGFA clinical classification (%)[#]		
Class I	12.4	51.1
Class II	40.4	38.8
Class III	26.7	8.4
Class IV	7.9	0.56
Class V	12.4	1.1
Antibody status		
AChRAB-positive (%)	80.5	77.2
MuSK-positive (%) [†]	6.5	0
Thymus status		
Thymectomy (%) [‡]	58.9	36.7
Thymoma (%)	41.2	50

*P < 0.005 (Mann-Whitney U test) and [#]P < 0.05, [†]P < 0.0001 (Pearson's chi-square test) between 2 groups.

Table 3. Baseline severity and parameters associated with oral PSL use and other treatment in patients with present status of 'I or worse' vs. 'MM or better'

	I or worse (n=246)	MM or better (n=226)
Baseline severity		
MGFA clinical classification (%)		
Class I	11.1	14.2
Class II	35	46.2
Class III	29.6	23.6
Class IV	9.1	6.7
Class V	15.2	9.3
Worst QMG ^{***}	15.8±6.7 (n=193)	13.6±6.8 (n=183)
Previous treatment with PSL		
Peak dose (mg/d) ^{**}	31.9±18.4	27.4±18.1
MM or better status at peak dose (%) [†]	31.4	83.5
Duration (yrs)	7.5±10.4	6.5±6.4
Duration of PSL <10 mg/d (yrs)	4.1±9.3	3.7±4.0
Duration of PSL 10-20 mg/d (yrs) ^{**}	2.1±3.9	1.9±4.0
Duration of PSL >20 mg/d (yrs) ^{***}	1.4±3.5	0.6±1.2
Total PSL dose during recent 1 year ^{****}	2460.2±2009.8	1705.9±1791.2
Previous treatment other than PSL		
CNIs (%) [†]	70.7	51.3
IVIg and/or PLEX (%)	46.8	39.8

*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001, ****P < 0.0001 (Mann-Whitney U test) and [†]P < 0.0001 (Pearson's chi-square test) between 2 groups.

Table 2. Differences in characteristics of patients with present status of 'I or worse' vs. 'MM or better'

	I or worse (n=246)	MM or better (n=226)
Demographics		
Gender (% women)	67.1	65.5
Age (yrs)	57.1±15.6	56.8±17.4
Age of onset (yrs)	45.5	46.5
Disease duration (yrs)	11.8±10.9	10.3±9.0
Antibody status		
AChRAB-positive (%) [†]	76.8	84.5
MuSK-positive (%)	6	7
Thymus status		
Thymectomy (%)	60.6	57.1
Thymoma (%)	41.3	41.1
Current treatment		
PSL < 5 mg/day (%) [‡]	48.8	75.2
Daily dose of PSL (mg) ^{**}	7.3±6.5	4.7±5.3
Daily dose of CsA (mg/kg) [*]	2.4±3.0 (n=76)	1.7±1.2 (n=53)
Daily dose of tacrolimus (mg)	2.0±1.3 (n=123)	1.9±1.3 (n=76)
Daily dose of pyridostigmine (mg) ^{**}	106.4±83.9 (n=246)	52.1±70.5 (n=226)

*P < 0.05, **P < 0.0001 (Mann-Whitney U test) and [†]P < 0.05, [‡]P < 0.0001 (Pearson's chi-square test) between 2 groups.

Table 4: Independent predictors of MM or better status from multivariate logistic modeling (n=376)

Parameter	Odds ratio (95% CI)
MM or better status at peak dose	12.21 (7.20 - 21.32)**
Total PSL dose during recent 1 year	0.17 (0.03 - 0.88)*
PLEX and/or IVIg	1.94 (1.04 - 3.68)*

The following variables were also included (as shown in Table 3): worst QMG; dose and duration of PSL; calcineurin inhibitor use. Factors that did not show significance after being run through the model are not shown. MM, minimal manifestations; PSL, prednisolone; PLEX, plasma exchange; IVIg, intravenous immunoglobulin.

* P < 0.05, **P < 0.0001

重症筋無力症での免疫抑制薬の長期投与例についての検討

研究分担者 藤井義敬¹⁾
共同研究者 設楽将之¹⁾

研究要旨

コントロールが難しい重症筋無力症（MG）症例では免疫抑制薬が投与される。当科での 213 例の MG 患者のうち 50 例に免疫抑制薬が投与された。36 例は現在も継続投与され、10 例は中止となった。中止の理由は症状安定が 4 例と腎機能障害が 2 例で、易感染性のために中止された例はなかった。平均投与期間は 59.3 ヶ月で 5 年以上の投与例が 40%で、10 年以上の投与例も 10%認めた。高齢であっても容量を調節しつつ長期投与が可能であった症例も認めた。

研究目的

MG の治療において、抗コリンエステラーゼ剤、ステロイド剤にて症状のコントロールが難しい場合はタクロリムス(TAC)、シクロスポリン(CyA)、アザチオプリン(AZ)などの免疫抑制薬が使用される。これらの免疫抑制薬には易感染性、腎機能障害などの副作用があり、投与時には慎重に経過観察する必要がある。当科での免疫抑制薬の長期投与例の臨床的特徴について明らかにすることを目的とする。

研究方法

1998 年 4 月より 2013 年 10 月までの間に重症筋無力症にて名古屋市立大学、腫瘍免疫外科を受診したのは 213 例。そのうち免疫抑制薬（TAC, CyA, AZ）を投与した症例は 50 例であり、これらについて検討を行った。

（倫理面への配慮）

研究対象となる個人のプライバシーを保護し人権を擁護している。

研究結果

①免疫抑制薬投与例について

免疫抑制薬投与例 50 例中、現在まで継続投与されているのは 36 例、途中で中止されたものは 10 例、不明 4 例であった。中止の理由は症状安定 4 例、腎機能障害 2 例、全身状態悪化 2 例、顔面神経麻痺 1 例、尿失禁 1 例であった。

平均投与期間は 59.3 ヶ月(4-164 ヶ月)。5 年以上の投与例は 20 例、10 年以上の投与例は 5 例であった。

投与期間	数	%
5 年未満	30	60%
5 年以上 10 年未満	15	30%
10 年以上	5	10%

②10 年以上の投与例について

<症例 1>

60 歳代男性。1995 年 7 月より右眼瞼下垂自覚し、他院にて MG 合併胸腺腫と診断。7 月に当科紹介となり、8 月に拡大胸腺摘出術

1) 名古屋市立大学大学院医学研究科 腫瘍・免疫外科

施行。術後も症状安定せず、1998年1月ステロイドパルス施行。3月MGクリーゼとなり、4月よりCyA、AZ導入。2005年6月腎機能障害にてCyA中止。2008年7月狭心症で入院。11月出血性胃潰瘍で入院。2009年1月汎血球減少症となりAZ中止。9月他院にて出血性胃潰瘍にて死亡。

<症例2>

40歳代男性。1996年1月眼瞼下垂、複視、嚥下困難自覚。4月他院にてMGと診断。1997年8月拡大胸腺摘出術施行。2000年よりAZ内服開始。2003年、TACに変更するも症状変わらず、2007年11月よりCyA内服。2008年11月より転居のため当院へ転院。症状に合わせてCyAを200mg前後で調整しているが、症状は比較的安定している。

<症例3>

30歳代女性。1991年発症、他院にてMGと診断され、拡大胸腺摘出術施行。その後も症状安定せず年3.4回入院、血漿交換およびステロイドパルス施行。1992年と1994年にクリーゼとなり挿管管理。2000年1月に当科紹介受診。3月より免疫抑制剤(CyA 250mg + AZ 100mg)開始。2003年、2005年、2009年にステロイドパルス施行。2006年よりCrの軽度上昇ありCyAの濃度調整。現在はCyA 200mg + AZ 100mgにてコントロール良好。

<症例4>

50歳代女性。1995年より強皮症にて他院通院。2001年筋力低下と嚥下困難出現し、MGと診断。2002年2月よりAZ開始。2003年4月よりAZ中止しCyA開始。その後もパルス、血漿交換など行うも症状安定せず、免疫抑制剤もTACに変更。2004年12月当科紹介。紹介時のTACは13mgであった。術前に血漿交換、大量γグロブリン療法施行し2005年2

月拡大胸腺摘出術施行。退院時のTACは13mg。以後徐々に症状安定、TACも減量。現在はTAC 3mgにてコントロールしている。

<症例5>

70歳代女性。1977年発症、他院にて全身型MGと診断されフォロー、ステロイドにてコントロールしていたが、2002年3月よりTAC開始。2007年7月よりCyAへ変更。2008年4月転居につき当科紹介。2010年6月腎機能障害ありCyA減量するも改善なく8月よりTACへ変更。現在TAC 0.5-1mgでコントロール良好。

考察

当科での免疫抑制薬投与例において、中止の理由としては腎機能障害が最多であった。易感染性のために中止された症例はなかった。

投与期間については5年以上が40%であり、10年以上の投与例も10%（5例）であった。症例5のように高齢であっても、容量を調整しつつ長期投与が可能であった。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

重症筋無力症 (MG) に対する tacrolimus hydrate 長期投与の有効性について

研究分担者 新野正明¹⁾

共同研究者 南 尚哉²⁾, 網野 格²⁾, 宮崎雄生^{1),2)}, 田代 淳²⁾, 藤木直人²⁾,
土井静樹²⁾, 菊地誠志²⁾

研究要旨

本研究では, tacrolimus hydrate (以下, tacrolimus) の長期投与の有効性について検討した. 対象は tacrolimus を 10 年間 (120 ヶ月) 投与した全身型重症筋無力症 (MG) 患者 8 名で, MG の重症度, ステロイド投与量, 抗アセチルコリン受容体 (AChR) 抗体価について, tacrolimus 投与前と投与 120 ヶ月後とで比較検討を行った. MG-ADL スコアは, 8 例中 7 例で重症度の改善を認め, 平均 4.9 ± 1.8 点 (tacrolimus 投与開始時) から, 2.0 ± 1.1 点 (120 ヶ月後) まで改善した. Prednisolone は 8 例中 6 例で減量することができ, 平均投与量は 20.8 ± 14.2 mg/日 (tacrolimus 投与開始時) から 8.7 ± 7.6 mg/日 (120 ヶ月後) まで減量となった. tacrolimus 投与後に治療を要した合併症は, 胸腺腫の再発をきたした 1 例があったが, その他はステロイドと関連が深い合併症が多く, MG に対する tacrolimus の長期投与は有用であると考えられた.

研究目的

免疫抑制剤である tacrolimus hydrate (以下, tacrolimus) は重症筋無力症 (myasthenia gravis : MG) の治療に用いられるが, その有用性の報告は, 観察期間が短いものが多いため, 長期投与での効果ははっきりしていない. 今回, tacrolimus を 10 年間 (120 ヶ月) 投与し, 経過を追えた 8 例を経験したので, その有効性について報告する.

研究方法

(1) 対象

当院で tacrolimus を 120 ヶ月投与した全身型 MG 患者 8 名 (男性 4 例, 女性 4 例) を対象とした.

(2) 方法

MG の重症度, ステロイド投与量, 抗アセチルコリン受容体 (AChR) 抗体価について tacrolimus 投与前と投与 120 ヶ月後を比較し, MG に対する有効性について検討した. tacrolimus 投与開始時

平均年齢は 48.8 ± 9.6 歳 (range : 33–62 歳) で, tacrolimus 投与開始までの平均罹病期間は, 11.7 ± 7.6 年 (range : 2.5–22.0 年) で, 10 年以上にわたる長期の罹病期間を有する症例が 5 例含まれていた. 7 例が胸腺摘出術を受けており, 3 例が thymoma で, いずれも non-invasive thymoma であった. 8 例全例で prednisolone が投与され, tacrolimus 開始時の prednisolone 投与量は平均 20.8 mg/日 (range : 5–50 mg/日) であった. 血清抗 AChR 抗体は 8 例中 7 例が陽性であった. tacrolimus は平均 2.9mg/日投与した.

(倫理面への配慮)

個人情報には細心の注意を払い, プライバシーの保護には十分に配慮した. また, 当院倫理委員会にて研究計画の承認を得た.

研究結果

重症度を MG-ADL スコアで検討すると, tacrolimus 投与開始時は, 平均 4.9 ± 1.8 点 (range : 3–7 点) であったが, 3 ヶ月後より徐々に低下し, 24 ヶ月後 3.1 点, 60 ヶ月後は 3.3 点と開始時より

1) 北海道医療センター 臨床研究部

2) 同 神経内科

低下し、120ヶ月後は 2.0 ± 1.1 点まで改善が見られた。また、tacrolimus 開始時に比し、120ヶ月後では、7例で重症度の改善を認め、悪化例は認めなかった。

tacrolimus 投与開始時の prednisolone 投与量は平均 20.8 ± 14.2 mg/日 (range : 5–50 mg/日) であったが、徐々に減少し、60ヶ月後には 9.3 mg/日まで減少した。120ヶ月後では 8.7 ± 7.6 mg/日 (range : 2.5–25 mg/日) まで減量できた。120ヶ月後は、Wilcoxon's signed rank test にて有意 ($p < 0.05$) に prednisolone 投与の減量がみられた。8例の内訳は、tacrolimus 開始前より 6例で減量、2例は不変で、増量例は認めなかった。

抗AChR抗体価の推移を検討したところ、tacrolimus投与前値を1とし、抗体価の変化率で見ると、120ヶ月後は0.71と低下は見られたが、統計学的有意差を認めなかった。

tacrolimus 投与後に治療を要した合併症は、ステロイドと関連が深いと考えられる真菌感染症や骨疾患の合併症が多かった。1例に胸腺摘出術後 29年目、tacrolimus 投与から 10年目に胸腺腫の再発が見られたが、tacrolimus との因果関係は不明であった。

考 察

MG に対する tacrolimus の有用性については多数報告されているが、投与観察期間はいずれも数

週から数年であり、長期にわたるものはみられなかった。今回の 10年 (120ヶ月) にわたる検討では、tacrolimus の長期投与においても MG-ADL スコアで平均 4.9 点から 2.0 点に改善し、7例で改善が得られたという結果を得た。また、tacrolimus との併用療法によってステロイド投与量は開始時平均 20.8 mg/日から徐々に減少し、120か月後では 8.7 mg/日まで減量可能となった。抗 AChR 抗体価の推移は 24–120ヶ月後と長期に渡って抗体価の低下を認めた。因果関係は不明であるが、1例で投与開始から 10年目に胸腺腫の再発が見られ、今後同様に胸腺腫の再発例がみられるのか注意深く観察する必要があると考えられる。

結 論

10年間の tacrolimus 投与により、7例 (87.5%) で重症度の改善を認め、6例 (75.0%) で prednisolone の減量が可能となった。MG に対して tacrolimus 投与は長期においても有用である。

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

重症筋無力症合併胸腺腫患者におけるPD1遺伝子多型に関する検討

研究分担者 藤井義敬¹⁾
共同研究者 佐々木秀文¹⁾、立松 勉¹⁾、設楽将之¹⁾、奥田勝裕¹⁾、彦坂 雄¹⁾、
森山 悟¹⁾、矢野智紀¹⁾

研究要旨

外科手術施行された胸腺腫 148 例(平均年齢 54.9 歳)、うち重症筋無力症(MG)合併 40 例、胸腺腫非合併 MG32 例(平均年齢 38.4 歳)。抽出した DNA より TaqMan PCR 法で遺伝子多型を解析した。胸腺腫における PD-1 -606G/A(rs36084323)は GG; 28.3%, GA; 48%, AA; 23.6%で過去の健常人の報告と同等であった。GG phenotype の頻度は、性別、年齢(40 歳以下か?)、病期(I-III vs IV 期)、MG の有無と有意な相関を認めなかった。胸腺腫非合併MGでの GG は 15.6%であり、胸腺腫合併MGでの GG; 32.5%に比し低い傾向を認めた($p=0.1003$)。イントロン 2 の多型(rs34819629)の genotyping は-606G/A と 93.9%一致し、性別、年齢、MG の有無と相関を認めなかった。PD-1 遺伝子多型が胸腺腫の発生、進展と関与する可能性は低い。しかし胸腺腫非合併MGでは PD-1 活性が低い背景から自己免疫疾患を発症する可能性がある。

研究目的

PD-1(programmed cell death 1)は、T細胞の細胞死誘導時に発現が増強される遺伝子で PD-1 欠損マウスでは自己免疫疾患を発症するため、自己に対する不適切な免疫反応を抑制し自己免疫疾患の発症を抑制しているとされる。一方腫瘍ではこのチェックポイント機構の破綻が腫瘍の進展に関与するため抗 PD-1 療法が注目されている。PD-1 の promoter 領域の遺伝子多型(-606A>G)はアジア人特異的で、promoter 活性を上昇させると報告されている。重症筋無力症は、抗体(アセチルコリンレセプター抗体)の関与した神経筋接合部に関する自己免疫疾患で、胸腺腫の 30%程度に合併する。胸腺腫合併重症筋無力症は胸腺腫非合併重症筋無力症と比し、HLA との関連、性別差や、胸腺摘出が比較的無効という点でも異なる。これらの背景と

PD-1 遺伝子多型が関連しているかどうかを見当する。

研究方法

1995 年から 2013 年に外科手術(胸腺摘出術)を施行された胸腺腫 148 例(平均年齢 54.9 ± 14.7 歳)、うち重症筋無力症(MG)合併 40 例、胸腺腫非合併 MG32 例(平均年齢 38.4 ± 18.9 歳)。148 例中 65 例(43.9%)が男性、83 例が女性、30(20.2%)が 40 歳以下、40(27%)が重症筋無力症を合併(男性 15、女性 25)、84 例が抗アセチルコリンレセプター抗体陰性。49 例(34.5%)が stage I、51 が stage II、22 が stage III、25 が stage IV。胸腺組織から抽出した genomic DNA を 10 マイクログラムに調整し、TaqMan PCR 法で遺伝子多型を解析した。プライマーは Applide Biosystem 社でデザインされたものを用いた。PD-1 (-606G/A; codon-606 of intron; rs36084323, +6371G/A; intron2; rs34819629), CTLA-4;

1) 名古屋市立大学大学院医学研究科 腫瘍・免疫外科

+49A/G, exon 1; rs231775)

なし

(倫理面への配慮)

名古屋市立大学大学院医学研究科のヒト遺伝子倫理委員会に研究内容を申請した。

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

研究結果

胸腺腫における PD-1 -606G/A(rs36084323) は GG; 28.3%, GA; 48%, AA; 23.6%で過去の健常人の報告と同等であった。GG phenotype の頻度は、性別(男 30.7%、女 26.5%、 $p=0.568$)、年齢(40歳以下 33.3%、40歳をこえる 27.1%、 $p=0.5002$)、病期(I-III vs IV期)、MGの有無(32.5% vs. 26.9%)と有意な相関を認めなかった。胸腺腫非合併MGでの GG は 15.6%であり、胸腺腫合併MGでの GG;32.5%に比し低い傾向を認めた ($p = 0.1003$)。イントロン2の多型(rs34819629)の genotyping は-606G/Aと 93.9%一致し、性別、年齢、MGの有無と相関を認めなかった。

結論

PD-1 遺伝子多型が胸腺腫の発生、進展と関与する可能性は低い。しかし胸腺腫非合併MGでは PD-1 活性が低い背景から自己免疫疾患を発症する可能性がある。

文献

Sasaki H, Tatematsu T, Shitara M, Hikosaka Y, Okuda K, Moriyama S, Yano M, Tanahashi M, Mizuno K, Endo K, Fujii Y. PD1 gene promoter polymorphism in thymoma and myasthenia gravis. *Journal of Immunology & Clinical Research*. 2014; 2(1):1011.

健康危険情報

重症筋無力症の病態解明：過形成胸腺ではハッサル小体が増加している

分担研究者 梶 龍児¹⁾

共同研究者 松井尚子¹⁾，古川貴大¹⁾，近藤和也¹⁾，高浜洋介¹⁾，野村芳子¹⁾

研究要旨

重症筋無力症 (Myasthenia Gravis, MG) 患者の胸腺では、何らかの理由で自己寛容の破綻がおこると推定されている。我々は、MG 患者の過形成胸腺で、ハッサル小体が増加していることならびに、CCL21 の発現が亢進していることを見いだした。ハッサル小体は髄質上皮細胞 (medullary thymic epithelial cells, mTEC) の最終分化を反映する。過形成胸腺では、何らかの理由で mTEC の最終分化が変調をきたし、CCL21 の発現が亢進することで、アセチルコリン受容体様構造に反応する自己反応性細胞の排除や制御に支障をきたしている可能性がある。

研究目的

胸腺の髄質では、自己反応性 T 細胞の負の選択による除去と、制御性 T 細胞 (regulatory T cells, Treg) の産生という少なくとも 2 つの点において、自己寛容の成立に重要な役割を担っている¹⁾。我々は、重症筋無力症 (Myasthenia Gravis, MG) 患者の胸腺内 Treg の産生は減少していないことをこれまでに報告した²⁾。そこで、MG の病態を考える上で、髄質の構成成分のひとつであるハッサル小体に注目した。

研究方法

○対象

当施設にて胸腺摘出術を施行された 49 例
<MG 非合併 24 例>

- (1) 心疾患を有する小児胸腺 8 例
- (2) 心疾患を有する成人胸腺 8 例
- (3) 胸腺腫 8 例

<MG 合併 25 例>

- (4) 正常胸腺 9 例
- (5) 過形成 7 例
- (6) 胸腺腫 9 例

(3) と (6) については、非腫瘍部分を解析した。

○方法

これらの胸腺から得た凍結組織切片について CD4、CD8 に加え、involucrin に対する抗体を用いた免疫染色の後、共焦点レーザー顕微鏡にて多重蛍光解析を行った。

1) 徳島大学神経内科

2) 同 臨床腫瘍医療学

3) 同 疾患プロテオゲノム研究センター
生命システム形成分野

4) 瀬川小児神経学クリニック

Involucrin 陽性細胞をハッサル小体として、1 髓質の大きさとその中にあるハッサル小体の数を ImageJ を用いて定量化した。またハッサル小体の周囲を ImageJ でトレースし、面積を測定した。さらに、HE 染色、Involucrin/Ki-67 の免疫染色にて、ハッサル小体の形態的变化について観察した。

次に、RT-PCR により、胸腺組織の mRNA 発現量 (CCL19、CCL21、CHRNA1) を測定した。また CCL21 の発現部位を確認するため、CCL21/K14 の免疫染色を追加した。

○本臨床研究については、当院倫理委員会にて承認を受けている。

研究結果

- 1) 髓質内でのハッサル小体の数は小児に比べ成人で減少していたが、MG 非合併の成人胸腺に比べ、MG 合併の過形成胸腺ではハッサル小体の数が有意に増加していた。
- 2) ハッサル小体の大きさについては、各群の間に有意差は認められなかった。
- 3) HE 染色において、MG の有無に関係なく、一部のハッサル小体内部に石灰化を認めたが、MG 合併の過形成胸腺においては、ハッサル小体の辺縁部に石灰化を認める傾向にあり、上皮細胞の分化に変調をきたしている可能性が示唆された。
- 4) Ki-67 はいずれの群においても、ハッサル小体にはほとんど発現していなかった。
- 5) CCL21 の mRNA 発現量は、胸腺腫群を

除く、MG 合併の過形成胸腺で有意に上昇していた。

6) CCL21 のシグナルはハッサル小体を含む髓質領域に多く発現しており、MG 合併の過形成胸腺では、MG 非合併の胸腺に比べ顕著であった。

考察

ハッサル小体は髓質上皮細胞 (medullary thymic epithelial cells, mTEC) の最終分化を反映する³⁾。また、CCL21 は mTEC に発現し、胸腺細胞の誘導に関与することが知られている⁴⁾。過形成胸腺では CCL21 が亢進し、高内皮静脈よりナイーブ B 細胞が誘導されることも報告されている⁵⁾。過形成胸腺では、何らかの理由で mTEC の最終分化が変調をきたし、CCL21 の発現が亢進することで、アセチルコリン受容体様構造に反応する自己反応性細胞の排除や制御に支障をきたしている可能性がある。

結論

MG 患者の過形成胸腺では、ハッサル小体が増加していた。

文献

- 1) 松井尚子ら 胸腺と免疫形成
Brain and Nerve 2011;63:679-684.
- 2) Matsui N, et al. Undiminished regulatory T cells in The Thymus of Myasthenia Gravis Patients. Neurology 2010; 74: 816-820.
- 3) White AJ, et al. Lymphotoxin signals from positively selected thymocytes regulate the terminal differentiation of medullary thymic

- epithelial cells. *J Immunol* 2010; 185: 4769-4776. overexpressed on lymphatic vessels
- 4) Kurobe H, et al. CCR7-dependent thymic hyperplasia in myasthenia. *Ann*
cortex-to-medulla migration of positively selected *Neurol* 2009; 66: 521-531.
thymocytes is essential for establishing central 健康危険情報:なし
tolerance. *Immunity* 2006; 24: 165-177. 知的財産権の出願・登録状況
- 5) Berrih-Aknin S, et al. CCL21 特許取得:なし 実用新登録:

重症筋無力症における T・B リンパ球サブセットの検討

研究分担者 埼玉医科大学総合医療センター 神経内科

野村 恭一

共同研究者 久保田 昭洋、深浦 彦彰、田中 覚、古谷 真由美、宮内 敦生、
石塚 慶太、鈴木 理人、齋藤 あかね、原 渉、成川 真也、田島 孝士、
伊崎 祥子、小島 美紀、吉田 典史、王子 聡、山里 将瑞、三井 隆男

研究要旨

当科では従来より末梢血 T リンパ球サブセットの研究を行っており、近年では B リンパ球の分化過程より B リンパ球サブセットを設定、検討を追加している。今回我々は、重症筋無力症を Early-onset・Late-onset・Thymoma-associated (E-L-T) の 3 群に分類し、T リンパ球ならびに B リンパ球サブセットの比較を行った。結果:T リンパ球サブセットの E-L-T 群の多群比較では有意差は認めなかった。B リンパ球サブセットの E-L-T 群の多群比較では、memory B のみにおいて有意差を認めた (E 群 $3.8 \pm 1.9\%$ 、L 群 $1.7 \pm 0.5\%$ 、Thymoma 群 $2.4 \pm 1.1\%$)。L 群 vs. E 群、L 群 vs. T 群の比較ではいずれも L 群において明らかな低値を認めた (各々 $p < 0.05$)。他の B リンパ球サブセットの検討では明らかな有意差はなかった。また、Late-onset MG では memory B の低値が病態・発症メカニズムとの関連が示唆された。plasmablast において MG の 11% で高値例を認めており、病態との関連性が示唆された。

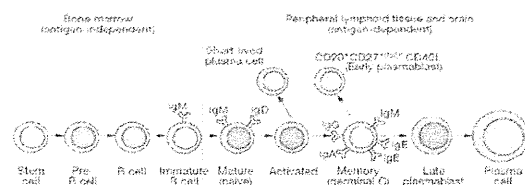
研究目的

重症筋無力症は、胸腺腫合併 MG (Thymoma-associated MG) は非胸腺腫合併 MG とは病態が異なる 1)。

後期発症 MG (Late-onset MG) は、早期発症 MG (Early-onset MG) と比較し、臨床的に違いがあり、Late-onset MG は「抗 Ach-R 抗体の陽性率が高い」や「重症化しやすいが免疫治療に反応性は比較的良好である」との報告がある 2)。

以前より B リンパ球は抗体産生機能が言われていたが、近年サイトカインなどを介して T・B リンパ球などの調節機能があることが判明した。その分化過程より B リンパ

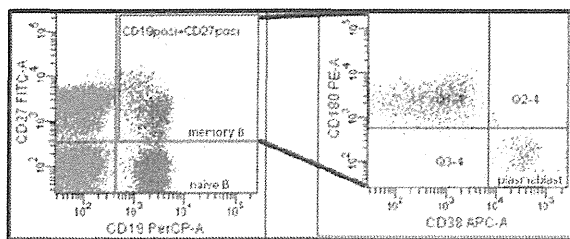
図 1 Bリンパ球の分化³⁾



球サブセットを設定することができる。(図 1) 今回、重症筋無力症において末梢血中の T・B リンパ球サブセットを測定、Early-onset・Late-onset・Thymoma-associated (E-L-T 分類) 各群間で比較することで MG の発症メカニズムの相違を検討することを目的として研究を行った。

埼玉医科大学総合医療センター 神経内科

図2 測定方法(フローサイトメトリー)



研究方法

1. 対象：当科に受診した MG 全 48 名を設定した。それを上記 Early-onset・Late-onset・Thymoma-associated (E-L-T) 各群に分類した。Early は 50 歳未満，Late は 50 歳以上とした。(E-L-T の順にて) 症例数は 17、18、13 人，発症年齢は 30.1±13、70.8±9.1、53.5±14.8 歳，罹病期間は 10.4±9.6、2.7±4.9、7.6±7.0 年であった。抗 Ach-R 抗体陽性率は 41.2%、77.8%、100%であった。MG-ADL スコアは 4.1±2.8 (n=12)、6.8±4.8 (n=12)、5.8±5.2 (n=9) であった。
2. 測定方法：患者から採取した末梢血約 2ml を用いて，赤血球は除去せずに全血のまま各種リンパ球（前述の T・B リンパ球サ

ブセットについて) の表面マーカーにつき染色。赤血球を溶血後，BD 社 FACS Canto II を用いて，フローサイトメトリー法にて測定した。(図 2)

3. 測定項目：T リンパ球は、cytotoxic-T、suppressor-T、活性化 CD8、活性化 CD4、regulatory T、NK 細胞に分けた。さらに、B リンパ球は、transitional B、naive B、memory B、plasmablast の全 10 項目を設定した。

研究結果

- 1) T リンパ球サブセット・NK 細胞の E-L-T 群の多群比較では有意差を認めなかった。(表 1)
- 2) B リンパ球サブセットの E-L-T 群の多群比較では、memory B のみにおいて有意差を認めた(E 群 3.8±1.9%、L 群 1.7±0.5%、Thymoma 群 2.4±1.1%)。E 群 vs. L 群、L 群 vs. T 群の比較ではいずれも L 群において明らかな低値を認めた(図 3)。他の B リンパ球サブセットの検討では明らかな有意差は認めなかった。Thymoma 群を除いた E 群と L 群の 2 群において発症年齢と Memory

表 1 結果

		Early-Onset n=17	Late-Onset n=18	Thymoma-Associated n=13	P		
					Evs.L	Evs.T	Lvs.T
Cytotoxic T (21.7±4.2)	CD8+ CD11b-	23.3±8.1	21.5±10.7	25.6±6.7	N.D.	N.D.	N.D.
Suppressor T (3.2±2.3)	CD8high CD11b low	2.6±4.5	1.6±1.2	3.0±3.1	N.D.	N.D.	N.D.
CD8 (10.6±4.3)	CD8+ HLA+	11.5±8.4	13.5±6.9	16.8±7.5	N.D.	N.D.	N.D.
CD4 (6.2±2.6)	CD4+ HLA+	9.0±13.0	9.5±4.3	9.5±5.2	N.D.	N.D.	N.D.
Regulatory T (2.3±0.9)	CD4+ CD25high	2.6±1.2	2.9±1.3	2.6±0.9	N.D.	N.D.	N.D.
NK (13.9±5.4)	CD3- CD16/56+	20.1±16.5	19.9±12.1	16.7±7.2	N.D.	N.D.	N.D.
Transitional B (0.6±0.4)	CD19+ CD24high CD38high	0.9±0.9	0.9±0.5	0.5±0.3	N.D.	N.D.	N.D.
Naïve B (7.2±3.2)	CD19+ CD27-	9.4±7.1	8.1±4.8	5.2±3.4	N.D.	N.D.	N.D.
Memory B (2.9±1.2)	CD19+ CD27+	3.8±1.9	1.7±0.5	2.4±1.1	<0.05	N.D.	<0.05
Plasmablast (2.1±1.6)	CD19+ CD27+ CD38high CD180-	4.0±8.1	2.0±1.7	3.0±2.4	N.D.	N.D.	N.D.

/Lymphocytes(%) mean±SD Tukey-kramer's test

Bに逆相関関係を認めた (n=35、r=-0.58、p=0.0002) (図4)。

図3 memory Bの3群比較

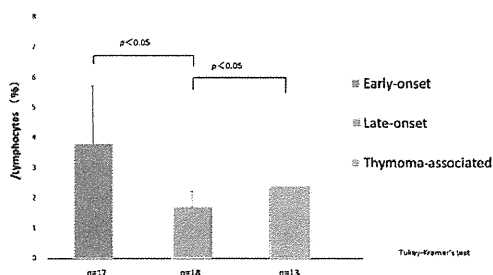
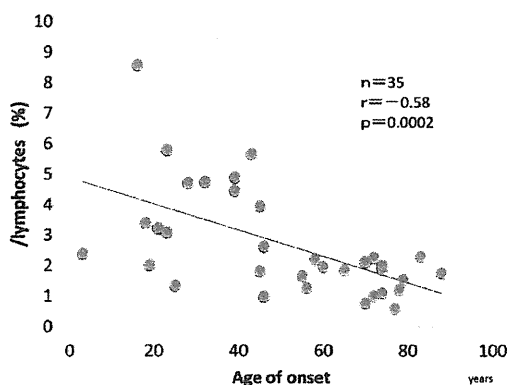


図4 発症年齢とmemory Bの関係



3) PB は各 3 群の平均値において有意差を認めなかったが、全 46 例中 5 例(11%)のみ高値を認めた。

考察

MG の E-L-T 各群における末梢血中の T・B リンパ球サブセットを検討したところ、memory B のみ有意差を認め、Late-onset 群が他群と比較し低値であった。MG における「memory B」の割合は、発症年齢との逆相関を認めた。発症が高齢になるほど低値に収束する結果を得た。

Late-onset MG では、「memory B」が低値であることがその発症メカニズムに関連していることが示唆された。今後サイトカイ

ンや memory B のさらなる分画などの検討を加えたい。

plasmablast は、NMO にて陽性報告がある。当科では AQP4 陽性の NMO/NMOsd の 16 例中 5 例 (40%) で陽性。今回 MG にて 46 例中 5 例 (11%) で陽性を認めた。一部の MG では Plasmablast の病態への関与が示唆された。

結論

Late-onset MG は、Memory B が低値であった。病態への関与が示唆された。MG の 11% に plasmablast の高値例が確認された。

文献

- 1) Mays J, Butts CL. Intercommunication between the neuroendocrine and immune systems: focus on myasthenia gravis. *Neuroimmunomodulation* 2011;18:320-327
- 2) 糸山 泰人ら. 日本神経治療学会 標準的神経治療 高齢発症重症筋無力症 日本神経治療学会治療指針作成委員会. *神経治療学* 2010;27:239-254
- 3) Dalakas MC. B cells as therapeutic targets in autoimmune neurological disorders. *Nat Clin Pract Neurol* 2008;4:557-567

健康危険情報 なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし
実用新案登録：なし

傍腫瘍性小脳変性症を合併した Lambert-Eaton 筋無力症候群では血液脳関門が破綻する

分担研究者 神田 隆¹⁾

共同研究者 ○清水文崇¹⁾, 本村政勝²⁾³⁾, 中田るか²⁾, 白石 裕一²⁾, 佐野泰照¹⁾,

研究要旨

【目的】傍腫瘍性小脳失調症を合併した Lambert-Eaton 筋無力症候群 (LEMS-PCD)での小脳症状の発症機序として、「LEMS 症状を引き起こしている抗 P/Q 型 VGCC 抗体が血液脳関門(BBB)を通過して、小脳の分子層に高密度に分布する P/Q 型 VGCC に作用し小脳性運動失調を呈する」という仮説が考えられている。今回、我々が樹立したヒト BBB 構成内皮細胞に LEMS-PCD 患者と LEMS 患者の IgG を作用させ、細胞生物学的見地からこの仮説を検討した。【方法】ヒト BBB 構成内皮細胞株(TY09)を用いた。臨床症状と電気生理検査により LEMS と診断され、抗 P/Q 型 VGCC 抗体陽性が確認された LEMS-PCD 患者 4 例と LEMS 患者 4 例の IgG を TY09 に作用させ、バリアー機能の指標となる claudin-5 蛋白量と電気抵抗値を測定した。さらに、BBB 破綻の程度と血中抗 P/Q 型 VGCC 抗体価の相関を統計学的に解析した。【結果】LEMS-PCD 患者からの IgG を作用させると TY09 の claudin-5 蛋白量と電気抵抗値が濃度依存的に低下したが、LEMS 患者からの IgG を作用させても変化がなかった。BBB 破綻の程度と血中抗 P/Q 型 VGCC 抗体価の間には有意な相関は無かった。【考察】PCD-LEMS 患者 IgG は BBB を破綻させたが、LEMS 患者 IgG では変化がなかった。BBB 破綻の有無が PCD-LEMS と LEMS の臨床病型を規定している可能性が考えられた。

【研究目的】

Lambert-Eaton 筋無力症候群(LEMS)では約 10%に小脳失調症を合併することが報告されており、傍腫瘍性小脳失調症を合併した LEMS (LEMS-PCD)と名付けられている。小脳症状の発症機序については、(1) LEMS-PCD 患者の脳脊髄液で抗 P/Q 型 VGCC 抗体が陽性となること¹⁾, (2) LEMS-PCD 剖検症例では小脳分子層の P/Q 型 VGCC 量が減少していること²⁾, (3) マウスの脳内に抗 VGCC 抗体を受動免疫すると小脳失調症状が出現することより³⁾, 「LEMS 症状を引き起こしている抗 P/Q 型 VGCC 抗体が血液脳関門(BBB)を通過して、小脳の分子層に高密度に分布する P/Q 型 VGCC に作用し小脳性運動失調を呈する」という仮説が推測されている。しかし、これまでに LEMS-PCD 患者に実際に BBB

破綻が存在するかについての検証はなされていない。今回、我々が樹立したヒト BBB 構成内皮細胞に PCD-LEMS 患者と LEMS 患者の IgG を作用させ、細胞生物学的見地からこの仮説を検討した。

【研究方法】

我々が樹立したヒト BBB 構成内皮細胞株(TY09)を用いた。臨床症状と電気生理検査により LEMS と診断され、抗 P/Q 型 VGCC 抗体陽性が確認された LEMS-PCD 患者 4 例(男性 4 例)と LEMS 患者 4 例(男性 1 例, 女性 3 例)の IgG を用いた。IgG は血漿交換療法により回収した血漿成分から精製した。

(実験 1) LEMS-PCD 患者由来 IgG と LEMS 患者由来 IgG を TY09 に作用させ、バリアー機能の指標となる claudin-5, occludin 蛋白量と電気抵抗値を測定した。

(実験 2) LEMS-PCD 患者の IgG 濃度を変化させ、

1 山口大学大学院医学系研究科神経内科学

2 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科内科学第一

3 長崎総合科学大学 医療電子コース

BBB 破綻の程度に濃度依存的な変化があるかを検討した。

(実験3) LEMS-PCD患者とLEMS患者の血中抗P/Q型VGCC抗体価を測定し、BBB破綻の程度(claudin-5/電気抵抗値の変化)と血中抗P/Q型VGCC抗体価の相関を統計学的に解析した。

(実験4) LEMS-PCD患者血清中ならびにLEMS患者血清中にヒトBBB構成内皮細胞に反応する自己抗体が存在するかを検証するために、TY09より抽出した蛋白を電気泳動しウェスタンブロット法を用いLEMS-PCD/LEMS患者IgGを反応させ解析した。

(倫理面への配慮)

患者由来IgGを使用するに当たり、山口大学医学部倫理委員会による承認を得た。個人が特定できないようにサンプルを匿名化し、プライバシーの保護に配慮した。

【研究結果】

(実験1) LEMS-PCD患者由来IgGを用いた培養ではTY09のclaudin-5の発現が有意に低下し、電気抵抗値が低下したが、LEMS患者由来IgGを用いた培養ではclaudin-5、occludinの発現、電気抵抗値に変化はなかった。

(実験2) LEMS-PCD患者由来IgGを希釈するとBBB破綻が認められなくなった。

(実験3) LEMS-PCD患者とLEMS患者の間で血中抗P/Q型VGCC抗体価に有意な差は無かった。BBB破綻の程度と血中抗P/Q型VGCC抗体価の間には有意な相関は無かった。

(実験4) ウェスタンブロット法ではLEMS-PCD/LEMS患者IgG中にBBB構成血管内皮細胞株に反応する自己抗体は検出されなかった。

【考察】

LEMS-PCD患者由来IgGはBBBを破綻させたが、LEMS患者由来IgGではBBBに変化がなかった。BBB破綻の有無がLEMS-PCDとLEMSの臨床病型を決定している可能性が考えられた。LEMS-PCD患者IgGの中でBBBを破綻させる可能性のある自己抗体の候補として抗P/Q型VGCC抗体あるいは抗P/Q型VGCC抗体以外のBBB構成内皮細胞に対する未知の自己抗体の関与を推測した。血中抗P/Q型VGCC抗体価とBBB破綻の程度には有意な相関がなかったが、BBB構成内皮細胞がP/Q型VGCCを発現するか、あるいは精製した抗P/Q型VGCC抗体がBBBを破綻させるかの検討が出来ていないため、今後の検証が必要である。一方で、ウェスタンブロット法ではLEMS-PCD患者IgG中にBBB構成内皮細胞に対する自己抗体を検出できなかった。しかし、未知の自己抗体がウェスタンブロット法で検出できない膜蛋白複合体、または蛋白立体構造を認識する抗体である可能性もありうるため、今後免疫染色を追加し同定を進めていく予定である。

【結論】

BBB破綻の有無がPCD-LEMSとLEMSの臨床病型を規定している可能性が示された。

- 1 Graus F et al. Neurology 2002; 59: 764-766
- 2 Fukuda T et al. Ann Neurol. 2003; 53: 21-28.
- 3 Liao YJ et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008; 105: 2705-2710.

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし 実用新案登録：なし

インフルエンザウイルス感染後に発症した神経疾患の臨床的特徴と抗糖脂質抗体の解析

研究分担者 楠 進

共同研究者 桑原 基、寒川 真、濱田 征宏、高田 和男

研究要旨

Guillain-Barré 症候群(GBS)の約 2/3 に先行感染をみとめるがインフルエンザウイルス感染の頻度は少なく、その特徴は十分に解析されていない。そこで今回インフルエンザウイルス感染後の神経疾患の特徴と抗糖脂質抗体について検討した。2009 年 9 月から 2012 年 6 月の間で 46 例のインフルエンザウイルス感染後の神経疾患(GBS25 例、FS8 例、BBE1 例、脳炎・脳症 7 例、脳神経障害 5 例)をみとめた。年齢は小児から高齢者まで幅広く、先行感染は A 型が 25 例、B 型が 9 例、不明が 12 例であった。抗糖脂質抗体は 46 例中 20 例で検出され、GQ1b に対する IgG 抗体が 11 例(GBS2 例、FS7 例、BBE1 例、脳症 1 例)と最も多く、特に 2011 年 3 月以降で頻繁に検出された。インフルエンザウイルス感染後 GBS では下位脳神経障害を伴う症例が多く、脱髄型が多くみられた。急性期に 20%で人工呼吸器を要する症例がみられたが、予後は比較的良好と考えられた。インフルエンザウイルスは頻繁に変異を繰り返すことが知られており、感染後に産生される抗糖脂質抗体はインフルエンザウイルスの抗原性の変異の影響をうける可能性がある。

研究目的

Guillain-Barré 症候群(GBS)の約 2/3 に先行感染を認めるが、インフルエンザウイルスを先行感染とする GBS は稀でありこれまで十分に解析されていない。そこでインフルエンザウイルス感染後の GBS およびその他の神経疾患について臨床的特徴と抗糖脂質抗体について解析した。

研究方法

2009 年 9 月から 2012 年 6 月の間で当科に抗糖脂質抗体の測定依頼があった症例のうち、先行感染がインフルエンザウイルスの可能性のある神経疾患を全症例抽出し、主治医へ追加アンケートを依頼し、最終診断、インフルエンザウイルスの型と診断方法、混合感染の有無、先行感染から発症

までの期間を調査した。GBS に関しては臨床症状と経過、脳脊髄液の蛋白値、電気生理検査の結果を調査し解析をした。アンケートで、インフルエンザウイルス感染が確定診断されていなかった症例や最終診断がインフルエンザウイルス感染後の神経疾患でなかった症例に関しては除外した。最終診断がインフルエンザ感染後の神経疾患であった症例に関して GM1, GM2, GM3, GD1a, GD1b, GD3, GT1b, GQ1b, Gal-C の糖脂質に対する IgG 抗体を調査した。抗糖脂質抗体の測定は従来の方法にしたがい ELISA で行った。

研究結果

インフルエンザウイルス感染後の神経疾患は 46 例(GBS25 例、FS8 例、BBE1 例、脳炎・脳症 7 例、脳神経障害 5 例)みとめた。

小児から高齢者まで幅広くみられ、先行感染から発症までの期間は中央値が 10 日、先行感染は A 型が 25 例、B 型が 9 例、不明が 12 例であった。抗糖脂質抗体は 46 例中 20 例で検出され、GQ1b に対する IgG 抗体が 11 例(GBS2 例、FS7 例、BBE1 例、脳症 1 例)と最も多く、次いで GM1 に対する IgG 抗体が 4 例、GD1b に対する IgG 抗体が 4 例でみられた。特に 2011 年 3 月以降に GQ1b に対する IgG 抗体が頻繁に検出された。インフルエンザウイルス感染後の GBS は脳神経麻痺の合併が 60%と多く、中でも下位脳神経障害を伴う症例が多かった。解析が可能であった 16 例の神経伝導検査の結果は Hadden らの分類で axonal 1 例、demyelinating 6 例、equivocal 6 例、normal 3 例、inexitable 0 例と脱髄型が多くみられた。急性期に 20%で人工呼吸器を要する症例がみられたが、予後は比較的良好であることが示唆された。

考察

インフルエンザウイルス感染後 GBS の既報告例では抗糖脂質抗体は陰性の場合が多いが、GD1b に対する IgG 抗体陽性が 1 例、GM1、GD1a、GD1b に対する IgG 抗体陽性が 1 例報告されている。人工呼吸器装着は 17 例中 4 例(24%)で、電気生理学的には脱髄型が多く、我々の報告と同様であった。

今回の我々の報告では 46 例中 20 例(43%)に抗糖脂質抗体がみられ、特に抗 GQ1b 抗体の頻度が多かった。インフルエンザウイルス感染後の GBS 発症機序として、インフルエンザウイルスはエンベロープを有しておりヘマグ

ルチニン(HA)とノイラミニダーゼ(NA)と呼ばれる表面糖蛋白質が存在する。これらに糖鎖様構造が存在し抗糖脂質抗体の産生が誘導され発症する可能性がある。また、インフルエンザウイルスはヒト気道細胞表面のシアル酸に HA が結合するとこによって感染が起こる。したがって、インフルエンザウイルス感染によって惹起される中和抗体には、可変領域部位に糖鎖様構造を持つ抗体が存在する可能性があり、それに対する抗イデオタイプ抗体が糖鎖に対して結合性をもつことにより GBS などを引き起こす可能性も考えられる。インフルエンザウイルスは変異を頻繁に繰り返すことが知られており、この抗原性変異が抗糖脂質抗体と神経疾患の動向に影響している可能性がある。

結論

1. インフルエンザウイルス感染によって抗糖脂質抗体の産生が誘導され、免疫性神経疾患が引き起こされる可能性がある。
2. インフルエンザウイルス感染後の GBS では脱髄型を呈することが多い。
3. 産生される抗糖脂質抗体の種類はインフルエンザウイルスの抗原性変異の影響をうける可能性がある。

文献

1. Lehmann HC, et al. Lancet Infect Dis. 2010;10:643-651.

健康危険情報

なし

知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし